

بررسی سرولوژیکی عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال در گله‌های گوشتی استان اردبیل

حسین نیک‌پیران^{۱*}، شهرام عباسی باهنر^۲، پیمان بیژن‌زاد^۳، مهدی تقوی ملایی^۴

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تبریز، ایران

۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، دانشجوی دامپزشکی، تبریز، ایران

۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تهران، ایران

۴. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانش آموخته دامپزشکی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: nikpiran20@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۸۹/۱۱/۱۲، پذیرش نهایی: ۹۰/۳/۱۸)

چکیده

اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال یک باکتری گرم منفی، غیرمتحرک، میله‌ای شکل می‌باشد که باعث ایجاد بیماری‌های تنفسی در طیور شده و موجب ایجاد ضررهای اقتصادی فراوان در صنعت طیور می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی وضعیت سرمی گله‌های گوشتی استان اردبیل از نظر آلودگی به اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال بود. برای این منظور از تعداد ۲۵ گله گوشتی در هفته آخر پرورش مجموعاً ۴۵۰ نمونه سرمی اخذ گردید و با استفاده از کیت الایزا IDEXX مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۷۲/۲ درصد (۳۲۵) نمونه‌های اخذ شده از نظر آنتی‌بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال مثبت بودند، همچنین ۲۷/۸ درصد (۱۲۵) نمونه‌های مورد آزمایش نیز از نظر عیار آنتی‌بادی مشکوک بودند و لازم به ذکر است که هیچ‌یک از نمونه‌های مورد آزمایش منفی نبودند. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان آلودگی سرمی علیه ORT در گله‌های گوشتی استان اردبیل بالا می‌باشد. از آنجایی که عفونت با ORT اهمیت اقتصادی زیادی در صنعت طیور دارد، تهیه برنامه جامع برای کنترل و پیشگیری از این بیماری ضروری می‌باشد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۹۰، دوره ۵، شماره ۴، پیاپی ۲۰، صفحات: ۱۳۶۳-۱۳۶۸.

کلید واژه‌ها: اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال، الایزا، اردبیل

مقدمه

بیماری‌های تنفسی در صنعت طیور از اهمیت بسیار زیادی برخوردار می‌باشند و عوامل بسیاری در ایجاد بیماری‌های تنفسی دخیل می‌باشند که هر یک از آنها به صورت اولیه و یا ثانویه می‌توانند ضررهای اقتصادی فراوانی را در صنعت پرورش طیور ایجاد نمایند. اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال (*Ornithobacterium rhinotracheale*) یک باکتری گرم منفی، غیرمتحرک، میله‌ای شکل، با رشد کند می‌باشد، که در

فوق خانواده *v* باکتری‌های rRNA جای گرفته است (۸). این باکتری اولین بار توسط Charlton و همکاران (۱۹۹۳) شناسایی شد (۷)، و سپس توسط Vandamme و همکاران (۱۹۹۴) جداسازی و تحت عنوان اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال نامگذاری شد (۲۴). علائم بالینی این بیماری در جوجه‌ها شامل سرفه، ترشحات بینی، آرتريت و در بوقلمون شامل ادم ریه‌ها، سینوزیت، پری‌کاردیت، بزرگ شدن کبد و تورم کیسه‌های

هوایی است که به دنبال آن کاهش رشد، کاهش وزن‌گیری، کاهش میزان تولید تخم مرغ، کاهش کیفیت پوسته تخم مرغ، کاهش جوجه‌درآوری و افزایش مرگ و میر (۱ تا ۱۵٪) مشاهده می‌شود (۸). به دلیل تشابه علائم بالینی و کالبدگشایی این بیماری با سایر عفونت‌های تنفسی ویروسی و باکتریایی، جدا سازی و تشخیص عامل مسبب جهت تشخیص تفریقی ضروری می‌باشد (۲۳). جهت تشخیص دقیق بایستی از روش‌های جداسازی و شناسایی باکتری و یا تشخیص آنتی‌بادی‌ها با استفاده از آزمایش‌های سرولوژیک استفاده نمود (۱۱). همچنین آزمایش‌های سرولوژیکی در غربالگری گله‌ها و کمک به تشخیص اورنیتوباکتریوم بسیار کارآمد می‌باشد (۸، ۱۲، ۲۰). مزیت آزمایش‌های سرولوژیک نسبت به آزمایشات باکتریولوژی، این است که آنتی‌بادی‌ها تا چندین هفته بعد از عفونت حضور دارند و قابل ردیابی هستند ولی حضور باکتری کوتاه مدت است و بعد از آن مرحله قابل شناسایی نخواهد بود هر چند که پاسخ آنتی‌بادی‌ها نسبت به حضور باکتری می‌تواند تحت تاثیر فاکتورهای مختلفی از قبیل درمان با آنتی‌بیوتیک و واکسیناسیون قرار گیرد (۱۲). همچنین گزارش‌هایی از رخداد عفونت در ایالات متحده، آلمان، آفریقای جنوبی، هلند، فرانسه، بلژیک، مجارستان، ژاپن، بریتانیا، ترکیه و ایران وجود دارد (۴، ۵، ۶، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۲۲). در این مطالعه نیز سعی گردید با استفاده از آزمایش الایزا وضعیت گله‌ها طیور از نظر سرمی در مورد اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال مشخص گردد.

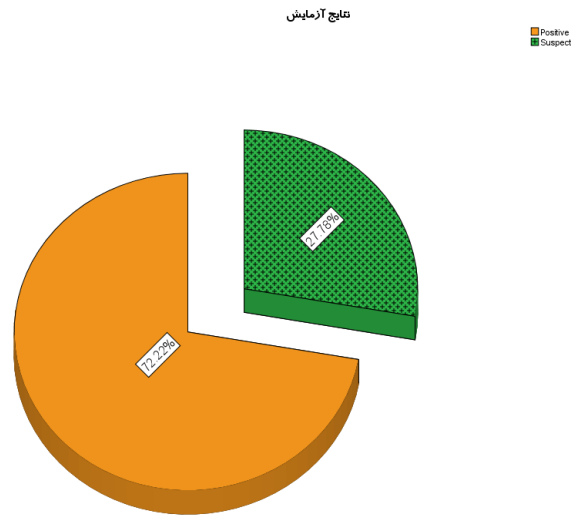
مواد و روش‌ها

طی این بررسی از ۲۵ گله گوشتی مجموعاً تعداد ۴۵۰ نمونه سرمی اخذ و از نظر عیار پادتنی اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال

مورد مطالعه قرار گرفت. از گله‌های گوشتی مورد آزمایش در هفته آخر پرورش تعداد ۱۸ نمونه خون از هر یک از گله‌ها اخذ شد. نمونه‌گیری از مزارع پرورشی در استان اردبیل و در فصل تابستان و پائیز سال ۱۳۸۹ انجام پذیرفت. لازم به ذکر می‌باشد که گله‌های مورد آزمایش از بین گله‌هایی انتخاب شدند که گله مادر آن‌ها واکسن اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال را دریافت نکرده بود. نمونه‌های سرمی اخذ شده به وسیله کیت الایزای IDEXX مورد آزمایش قرار گرفتند. کیت الایزای اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال از نوع غیرمستقیم می‌باشد که قادر به شناسایی آنتی‌بادی در سرم جوجه‌ها و بوقلمون‌ها است. این آزمایش نظارتی آزمایشی سریع می‌باشد که قادر است نتایج را کمتر از دو ساعت مشخص سازد و قادر به شناسایی سروتیپ‌های A تا M اورنیتوباکتریوم می‌باشد. نتایج خوانده شده بوسیله نرم‌افزار Xcheck ویرایش ۳،۳ که توسط شرکت سازنده کیت فراهم گردیده است، قرائت و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت بررسی داده‌های حاصل از مطالعه نیز از روش‌های توصیفی و تعیین فراوانی با استفاده از بسته نرم افزاری PASW SPSS ویرایش ۱۸،۰ استفاده به عمل آمد.

یافته‌ها

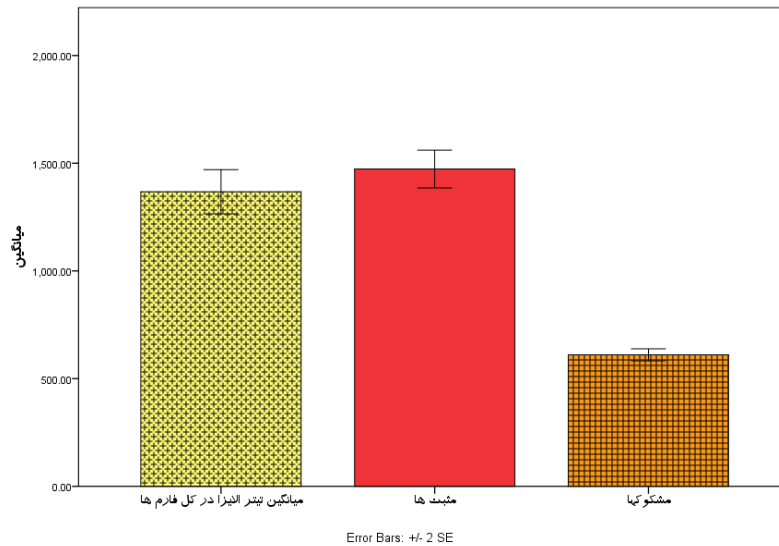
در مطالعه حاضر در مجموع تعداد ۴۵۰ نمونه سرمی از ۲۵ گله در سطح استان اردبیل در هفته آخر پرورشی اخذ گردید. بر اساس نتایج حاصل از آزمایش الایزا ۷۲/۲ درصد (۳۲۵) نمونه‌های اخذ شده از نظر آنتی‌بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال مثبت بودند، همچنین ۲۷/۸ درصد (۱۲۵) نمونه‌های مورد آزمایش نیز از نظر عیار آنتی‌بادی مشکوک بودند و لازم به ذکر است که هیچ‌یک از نمونه‌های مورد آزمایش منفی نبودند.



نمودار ۱- میزان آلودگی گله‌های گوشتی استان اردبیل با اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال

از این بین در تمامی گله‌های مورد آزمایش عیار سرمی مثبت مشاهده گردید که کمترین درصد موارد مثبت در هر گله ۳۸/۸۸ درصد (۷) و بیشترین موارد مثبت با ۱۰۰ درصد (۱۸) موارد مثبت در هر گله گزارش شد. از نظر عیار آنتی‌بادی‌های حاصله در گله‌های، مورد آزمایش میانگین تمامی فارم‌ها

۱۲۸۸/۷۳±۳۲/۰۷ و میانگین کل موارد مثبت ۱۵۴۹/۵۵±۳۴/۴۹ بود (انحراف استاندارد± میانگین).



نمودار ۲- میانگین عیار آنتی‌بادی بر علیه اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال با استفاده از آزمایش الیزا در گله‌های استان اردبیل

بحث و نتیجه گیری

با توجه به افزایش بیماری‌های تنفسی در صنعت طیور در سال‌های اخیر و افزایش خسارات اقتصادی ناشی از تلفات بالا به‌خصوص در گله‌های گوشتی کشور به‌نظر می‌رسد جهت تعیین عوامل زمینه‌ای و عوامل مستعد کننده همراه، بایستی مطالعات کافی در این بخش صورت گیرد. بنابراین هدف از این مطالعه تعیین درصد آلودگی و عیار سرمی اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال در گله‌های گوشتی استان اردبیل با استفاده از آزمایش الایزا بود. جهت تشخیص دقیق اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال بایستی از روش‌های جداسازی و شناسایی باکتری و یا تشخیص آنتی‌بادی‌ها با استفاده از آزمایش‌های سرولوژیک استفاده نمود (۱۱ و ۱۲).

در مطالعه حاضر ۷۲/۲ درصد نمونه‌ها در آزمایش الایزا از نظر آنتی‌بادی برعلیه اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال مثبت بودند. یافته‌های حاصل از مطالعه عالی‌مهر (۲۰۰۶)، در استان آذربایجان غربی حاکی از آلودگی ۴۴/۲ درصد از نمونه‌های مورد آزمایش بود (۴). همچنین مطالعه قنبرپور و صالحی (۲۰۰۹)، در جنوب شرقی ایران ۳۱/۹ درصد آلودگی در آزمایش الایزا نشان داد، البته از این بین در ۳/۵ درصد از نمونه‌ها باکتری جداسازی شد (۹)، اما با توجه به اینکه این باکتری را تنها در مراحل اولیه عفونت می‌توان جداسازی نمود و در مراحل پایانی عفونت احتمال جداسازی بسیار پائین است، میزان درصد جداسازی نمی‌تواند نشانگر میزان دقیق عفونت باشد (۸).

همچنین براساس مطالعات حقیقی خوشخو و همکاران (۱۳۸۷) در استان تهران (۱)، جعفریان و همکاران (۱۳۸۷) در استان چهارمحال و بختیاری (۲) و کلیدری و همکاران (۱۳۸۷) در مشهد (۳) میزان آلودگی به ORT به ترتیب ۴۴/۵ درصد، ۱۰/۲ درصد و ۹۷/۶۳ درصد ذکر شده است که گویای تفاوت میزان آلودگی در استان‌های مختلف کشور نیز می‌باشد. علاوه بر این مطالعه van Empel و Hafez (۱۹۹۹) نشان داد که عیار آنتی‌بادی در حدود یک تا چهار هفته پس از آلودگی مزرعه‌ای به

میزان پیک آن می‌رسد، اما پس از آن به‌سرعت کاهش می‌یابد، بنابراین نمونه‌های سرمی جهت غربالگری گله‌ها در سنین مختلف بایستی اخذ شوند (۲۳) تا بتوان با دقت میزان دقیق بروز عفونت را مشخص ساخت. بر اساس مطالعاتی که در مناطق مختلف کشور ترکیه توسط Ak و Turan (۲۰۰۲) و Kaya و Turkyilmaz (۲۰۰۵) صورت گرفته است، میزان موارد مثبت سرمی به ترتیب ۶۵ و ۶۶/۳ درصد گزارش شده است (۱۹ و ۲۰). در مطالعه Uriate و همکاران (۲۰۱۰)، در ۲۱ شهر مختلف آرژانتین، ۶۲/۶ درصد نمونه‌های سرمی از نظر اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال مثبت بودند که نشان دهنده میزان بالای آلودگی به اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال در این کشور می‌باشد (۲۱).

Lopes و همکاران (۲۰۰۲)، عنوان نمودند که فراوانی میزان بروز عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال براساس فصل متغیر بوده و معمولاً میزان بروز این عفونت در فصل زمستان بیشتر می‌باشد (۱۵). اما مطالعات کلیدری و همکاران (۱۳۸۷) در فصول تابستان و زمستان از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را در مورد میزان آلودگی سرمی به اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال در فصول مختلف سال نشان نداد (۳).

نتایج مطالعه حاضر که حکایت از آلودگی ۷۲/۲ درصدی به اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال در استان اردبیل می‌باشد، با مطالعات انجام گرفته در کشورها و نقاط مختلف ایران دارای همخوانی می‌باشد. اختلافات موجود نیز می‌تواند بدلیل سنین مختلف انجام آزمایش و تفاوت در زمان ایجاد عفونت و عدم پایداری آنتی‌بادی‌های ایجاد شده و احتمالاً به‌دلیل انجام مطالعات در فصول مختلف سال باشد. با این وجود میزان درصد بالای آلودگی در نمونه‌های آزمایشی از گله‌های گوشتی در استان اردبیل دارای اهمیت بسیار زیادی از جنبه خسارات اقتصادی ناشی از بیماری‌های تنفسی و کاهش رشد و افزایش تلفات می‌باشد و به‌دلیل اهمیت اقتصادی مذکور بایستی سایر گله‌های

استان شامل گله‌های تخمگذار، نیمچه‌های تخمگذار و گله‌های مادر نیز از نظر این عفونت پایش گردند.

منابع

۱. حقیقی خوشخو، پ.، اکبری آزاد، گ. و امیری، ش. ۱۳۸۷. بررسی شیوع سرمی عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در جوجه‌های گوشتی استان تهران. مجموعه مقالات چهارمین سمپوزیوم ملی بهداشت و بیماری‌های طیور، شهرکرد. صفحه: ۱۰.
۲. محسن جعفریان، م.، فتحی، ع.، بزرگمهری فرد، م.ح. و اشراقیان، ف. ۱۳۸۷. بررسی میزان آلودگی به اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در لاشه جوجه‌های گوشتی استان چهار محال و بختیاری. مجموعه مقالات چهارمین سمپوزیوم ملی بهداشت و بیماری‌های طیور، شهرکرد. صفحه: ۵۷.
۳. کلیدری، غ.، باسامی، م.ر.، کاوسی، ه. و کردی، ف. ۱۳۸۷. بررسی سرولوژیک اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در تعدادی از مرغداری‌های گوشتی و مادر مشهد. مجموعه مقالات چهارمین سمپوزیوم ملی بهداشت و بیماری‌های طیور، شهرکرد. صفحه: ۵.

4. Allymehr, M. 2006. Seroprevalance of Ornithobacterium Rhinotracheale Infection in Broiler and Broiler Breeder Chicken in West Azarbaijan Provine, Iran. *J Vet Med A*, 53(1): 40-42.
5. Banani, M., Khaki, P., Goodarzi, H., Vandyousefi, J. and Pournakhsh, S. A. 2000. Isolation and Identification of Ornithobacterium Rhinotracheale from a Broiler and a Pullet Flock. *Pajouhesh-va-Sazandegi*, 46: 106-109.
6. Banani, M., Momayez, R., Pournakhsh, S. A., Goodarzi, H. and Bahmani Nejad, M. A. 2002. Simultaneous Isolation of O. Rhinotracheale and Avian Influenza Virus Subtype H9n2 from Commercial Poultry Chickens. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 6: 190-195.
7. Charlton, B. R., Channing-Santiago, S. E., Bickford, A. A., Cardona, C. J., Chin, R. P., Cooper, G. L., et al. 1993. Preliminary Characterization of a Pleomorphic Gram-Negative Rod Associated with Avian Respiratory Disease. *J Vet Diagn Invest*, 5(1): 45-71.
8. Chin, R. P., van Empel, P. C. M. and Hafez, H. M. 2008. Ornithobacterium Rhinotracheale Infection. In: *Disease of Poultry*. Y. M. Saif. Wiley-Blackwell Publishing, Iowa, IA: 765-774.
9. Ghanbarpour, R. and Salehi, M. 2009. Sero-Prevalence and Identification of Ornithobacterium Rhinotracheale in Broiler Flocks in South-Eastern Iran. *Tropical Animal Health and Production*, 41(8): 1679-1683.
10. Hafez, H.M. 1994. Respiratory Disease Condition in Meat Turkey Caused by Ornithobacterium Rhinotracheale: Clinical Signs, Diagnosis and Therapy. *Proceedings of the 43rd Western poultry disease conference*, Sacramento, CA, USA
11. Hafez, H. M. 1998. Current Status on on the Laboratory Diagnosis of Ornithobacterium Rhinotracheale "Ort" in Poultry. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 111: 143-145.
12. Hafez, H. M. 2002. Diagnosis of Ornithobacterium Rhinotracheale. *International Journal of Poultry Science*, 1: 114-118.
13. Hinz, K. H., Blome, C. and Ryll, M. 1994. Acute Exudative Pneumonia and Airsacculitis Associated with Ornithobacterium Rhinotracheale in Turkeys. *Veterinary Record*, 135(10): 233-234.
14. Joubert, P., Higgins, R., Laperle, A., Mikaelian, I., Venne, D. and Silim, A. 1999. Isolation of Ornithobacterium Rhinotracheale from Turkeys in Quebec, Canada. *Avian Diseases*, 43(3): 622-626.
15. Lopes, V. C., Velayudhan, B., Halvorson, D. A. and Nagaraja, K. V. 2002. Survival of Ornithobacterium Rhinotracheale in Sterilized Poultry Litter. *Avian Diseases*, 46(4): 1011-1014.
16. Rahimi, M. and Banani, M. 2007. Isolation of Ornithobacterium Rhinotracheale from the Chickens of a Broiler Farm in Kermanshah Province, West of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 8(4): 355-359.
17. Sakai, E., Tokuyama, Y., Nonaka, F., Ohishi, S., Ishikawa, Y., Tanaka, M., et al. 2000. Ornithobacterium Rhinotracheale Infection in Japan: Preliminary Investigations. *Veterinary Record*, 146(17): 502-503.

18. Travers, A. F. 1996. Concomitant *Ornithobacterium Rhinotracheale* and Newcastle Disease Infection in Broilers in South Africa. *Avian Diseases*, 40(2): 488-490.
19. Turan, N. and Ak, S. 2002. Investigation of the Presence of *Ornithobacterium Rhinotracheale* in Chickens in Turkey and Determination of the Seroprevalance of the Infection Using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Avian Diseases*, 46(2): 442-44.
20. Turkyilmaz, S. and Kaya, O. 2005. Detection of Antibodies Produced against *Ornithobacterium Rhinotracheale* and *Bordetella Avium* by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in Hens and Turkeys in Aydin Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(3): 897-902.
21. Uriarte, J., Suzuki, K., Origlia, J., Gornatti, D., Piscopo, M., Cerda, R., et al. 2010. Stochastic Estimation of Seroprevalence against *Ornithobacterium Rhinotracheale* and Avian Pneumovirus among Chickens in Argentina. *International Journal of Poultry Science*, 9(4): 352-356.
22. Van Beek, P. 1994. *Ornithobacterium Rhinotracheale* (Ort), Clinical Aspects in Broilers and Turkeys. Annual meeting of the veterinary study group of the EU, November, Amesterdam, 1994.
23. Van Empel, P. C. M. and Hafez, H. M. 1999. *Ornithobacterium Rhinotracheale*: A Review. *Avian Pathology*, 28(3): 217 - 227.
24. Vandamme, P., Segers, P., Vancanneyt, M., van Hove, K., Mutters, R., Hommez, J., et al. 1994. *Ornithobacterium Rhinotracheale* Gen. Nov., Sp. Nov., Isolated from the Avian Respiratory Tract. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(1): 24-37.

Serological survey of *Ornithobacterium rhinotracheale* infectious in broiler flocks of Ardabil province

Nikpiran, H.^{1*}, Abbasi Bahonar, Sh.², Bijanzad, P.³, Taghavi Molaii, M.⁴

1-Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2-Student of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3-Department of Clinical Sciences,, Faculty of Specialized Veterinary Medicine Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University-
Tehran, Tehran, Iran

4-Graduate of Veterinary Medicine, Young Researchers Club member, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
Iran

*Corresponding author's email: nikpiran20@iaut.ac.ir

(Received: 2011/1/31, Accepted: 2011/8/8)

Abstract

Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) is a gram negative, non-motile, and rod shaped bacterial pathogen causing respiratory tract disease in poultry and cause economic losses in poultry industry. The Objective of this study, was investigation of serological status of Ardabil province broiler flocks in view of ORT infection. For this purpose from 25 broiler flocks, 450 serum samples were taken in last week of age, and then investigated with IDEXX ELISA kit. Results showed that 72.2 percent (325 samples) of samples were positive to antibodies against ORT and the remaining samples 27.8 percent (125 samples) were suspicious and non of samples were negative. In conclusion, the results of this study indicated that the prevalence of ORT antibodies is high in the broiler flocks of Ardabil province. Due to the economical importance of ORT infection it might be necessary to prepare a general prevention and control plan to tackle this emerging disease.

Keywords: *Ornithobacterium rhinotracheale*, ELISA, IDEXX